

SEKS REVERSAL IKAN NILA MERAH (*Oreochromis* sp.) MELALUI PERENDAMAN LARVA MENGGUNAKAN AROMATASE INHIBITOR

Sex Reversal of Red Tilapia (*Oreochromis* sp.) by Larval Immersion using Aromatase Inhibitor

Agus O. Sudrajat, I. D. Astutik dan H. Arfah

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

This study was performed to verify the effect of red Nile tilapia (*Oreochromis* sp.) larval immersion using aromatase inhibitor (1,3-Diaza-2,4-Cyclopentadiene) on percentage of male fish. Nine-day-old of Nile tilapia larva was immersed in aromatase inhibitor at the dose of 0, 10, 20 and 30 mg/L water for 10 hours. Number of larva immersed was 100 fish per treatment. The results of study indicated that immersing of 9-day-old larva for 10 hours was ineffective in producing male fish. The highest male percentage was 59.5% at the dose of 20 mg/L, and statistically similar with other treatments including control. However, this treatment has possibility to produce hermaphrodite, and had no effect on survival of fish.

Keywords: red Nile tilapia, *Oreochromis*, *Aromatase Inhibitor*, immersion

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek perendaman ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) menggunakan aromatase inhibitor (1,3-Diaza-2,4-Cyclopentadiene) terhadap persentase ikan jantan. Larva ikan nila umur 9 hari direndam dengan aromatase inhibitor dengan dosis 0, 10, 20 dan 30 mg/L air selama 10 jam. Jumlah larva yang direndam sebanyak 100 ekor per perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman pada fase larva umur 9 hari selama 10 jam terbukti kurang efektif untuk menghasilkan ikan jantan. Persentase jantan tertinggi hanya mencapai 59,5% dengan dosis 20 mg/L aromatase inhibitor dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya termasuk kontrol. Namun perlakuan tersebut berpotensi menghasilkan individu hermaprodit, dan tidak berpengaruh terhadap kelangsungan hidup ikan.

Kata kunci: ikan nila merah, *Oreochromis*, *Aromatase Inhibitor*, perendaman

PENDAHULUAN

Produksi ikan nila (*Oreochromis* sp.) di Indonesia menduduki urutan ketiga terbesar untuk ikan kolam air tawar setelah ikan mas dan ikan tawes. Laju pertumbuhan ikan nila berkelamin jantan sekitar 20% lebih cepat daripada betina dan rendemen daging ikan nila jantan dengan system *monosex culture* (tunggal kelamin) sangat menguntungkan. *Monosex culture* juga dapat mencegah pemijahan liar sehingga dihasilkan ikan yang berukuran besar dan seragam.

Pada umumnya, untuk memproduksi monoseks jantan dilakukan melalui teknik *sex reversal* dengan menggunakan hormon

melalui perendaman, penyuntikan atau melalui pakan. Namun peredaran beberapa hormon mulai dibatasi karena bersifat karsinogenik dan limbahnya berpotensi menimbulkan polusi pada lingkungan. Aromatase inhibitor sebagai alternatif merupakan bahan kimia bukan hormon yang bersifat nonsteroid (imidazole) dan telah digunakan untuk terapi penyembuhan dan pengobatan kanker pada manusia (Higa dan Alkouri, 1998) serta mudah terurai sehingga tidak mencemari lingkungan perairan. Aromatase inhibitor berfungsi menghambat kerja aromatase dalam sintesa estrogen sehingga mengakibatkan terjadinya penurunan konsentrasi estrogen yang

mengarah pada tidak aktifnya transkripsi dari gen aromatase sebagai *feedbacknya* (Sever *et al.*, 1999). Penurunan rasio estrogen terhadap androgen mengakibatkan terjadinya perubahan penampakan hormonal dari betina menjadi menyerupai jantan, dengan kata lain terjadi maskulinisasi karakteristik seksual sekunder (Davis *et al.*, 1999).

Aromatase inhibitor (fadrozole) telah terbukti dapat menimbulkan efek maskulinisasi dengan meningkatkan persentase jantan pada ikan nila (*Oreochromis* sp.) mencapai 96% melalui pakan (Kwon *et al.*, 2000). Pada ikan salmon (*Onchorhyncus tshawytscha*) aromatase inhibitor (imidazole) telah menghasilkan jantan fungsional sebesar 20% melalui perendaman telur (Piferrer *et al.*, 1994). Pada ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) dengan perendaman telur fase bintik mata dapat memaskulinisasi ikan sampai 82,22% (Nurlaela, 2002). Pada penelitian ini dilakukan perendaman menggunakan aromatase inhibitor pada larva umur 9 hari selama 10 jam.

BAHAN & METODE

Pemijahan induk dan inkubasi larva

Penelitian dilakukan di Kolam Percobaan dan Laboratorium Pengembangbiakan dan Genetika ikan, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Larva ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) yang digunakan berumur 9 hari dari hasil pemijahan secara alami. Untuk memperoleh larva ikan tersebut dilakukan pemijahan induk ikan nila merah pada bak semen ukuran 250×200×100 cm dengan perbandingan jantan dan betina 1:3. Selama pemeliharaan, induk diberi pakan berupa pelet dengan frekuensi 3 kali perhari dan dilakukan sampling telur setiap 7 hari sehingga didapatkan telur dari hasil pemijahan tersebut. Telur yang didapat diinkubasi pada akuarium ukuran 30×20×20 cm dengan aerasi kuat dan penambahan biru metilen untuk mencegah jamur.

Perendaman dan pemeliharaan larva

Perendaman di dalam air yang mengandung aromatase inhibitor (1,3-Diaza-2,4-Cyclopentadiene), dilakukan pada ikan nila merah setelah berumur 9 hari dengan dosis 0 (kontrol), 10, 20 dan 30 mg/L selama 10 jam dan kepadatan 100 ekor/perlakuan. Pemberian pakan dilakukan setelah larva berumur 3 hari menggunakan *Artemia* sampai 7 hari dan selanjutnya menggunakan *Daphnia* sampai hari ke-14. Cacing sutera diberikan setelah larva berumur 15 hari sampai 60 hari yang dikombinasikan dengan pakan udang yang berkadar protein 40% dan berbentuk *crumble* 1, 2 dan MS 3. Pemeliharaan selanjutnya dilakukan pada bak semen dengan menggunakan jaring ukuran 200×200×100 cm menggunakan pakan komersil berkadar protein 32% yang berdiameter 2 mm sampai ikan berumur 90 hari. Frekuensi pemberian pakan sebanyak 3 kali/hari secara *at libitum* untuk pakan alami dan *at satiation* untuk pakan buatan.

Pengamatan

Parameter yang diamati meliputi persentase jenis kelamin jantan, tingkat kelangsungan hidup larva setelah perendaman dan akhir penelitian, ciri morfologi ikan seperti bobot dan panjang tubuh. Penentuan jenis kelamin dilakukan dengan pewarnaan asetokarmin pada gonad yang telah dicacah dan diletakkan diatas gelas objek. Preparasi histologis juga dilakukan dengan menggunakan pewarnaan hematoksilin-eosin yang kemudian diamati menggunakan mikroskop.

HASIL & PEMBAHASAN

Pemberian aromatase inhibitor tidak berpengaruh terhadap persentase kelamin jantan ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) pada taraf kepercayaan 95% yang diduga akibat kurang efektifnya dosis yang digunakan melalui perendaman larva umur 9 hari selama 10 jam. Persentase kelamin jantan tertinggi sebesar 59,51% tercatat pada hasil perendaman dengan dosis 20 mg/l

(Gambar 1). Dosis aromatase inhibitor yang digunakan ini mengacu pada penelitian sebelumnya, yaitu pada dosis yang sama (20 mg/l) dapat menghasilkan persentase kelamin jantan sebesar 82,22% melalui perendaman pada embrio fase bintik mata (Nurlaela, 2002). Pemberian aromatase inhibitor melalui perendaman pada fase larva kurang efektif karena terlalu jauh untuk mencapai organ target, yaitu otak. Perlakuan pengarahannya kelamin dengan cara perendaman, hormon akan masuk ke dalam tubuh ikan melalui insang, kulit, dan gurat sisi (Zairin, 2002) sehingga dengan cara ini, tidak semua hormon masuk ke dalam tubuh ikan. Aromatase inhibitor masuk ke dalam tubuh larva melalui proses difusi karena perbedaan konsentrasi antara media perendaman dengan larva. Seperti halnya hormon (Misnawati, 1997), aromatase inhibitor diduga masuk secara difusi. Aromatase inhibitor yang masuk ke dalam sel akan langsung berhubungan dengan sisi aktif dari enzim dan mengikatnya sehingga sisi aktif tersebut tidak ditempati oleh substrat alami (testosteron) (Brodie, 1991).

Fungsi aromatase dalam penentuan kelamin telah diamati, bahwa enzim yang mengkonversi androgen menjadi estrogen adalah aromatase (cytochrome p-450 aromatase) (Callard *et al.*, 1995). Dan menurut Jeyasuria *et al.* (1996 dalam Kwon, (2000) peranan cytochrome p-450 aromatase pada determinasi jenis kelamin telah diuji dan berpengaruh terhadap aromatase androstenedione menjadi estrone dan testosteron menjadi estradiol-17 β . Pada beberapa spesies, sifat penghambatan dari enzim ini mengakibatkan maskulinisasi, serupa dengan efek yang ditimbulkan oleh androgen (contoh, bullfrog *Rana catesbiana*, Yu *et al.*, 1993; pada ayam *Gallus domesticus*, Elbreth dan Smith, 1992, Wartenburg *et al.*, 1992; pada ikan chinook salmon *Onchorhynchus tshawytscha*, Pieferrer *et al.*, 1994).

Pemberian aromatase inhibitor (imidazole) pada periode waktu 9-13 hari setelah menetas melalui pemberian pakan dengan dosis 500 mg/kg dapat menghasilkan persentase kelamin jantan sebesar 74 % (Suhanti, 2003). Dan menurut Kwon *et al.*,

(2000), masa diferensiasi ikan terjadi hingga 30 hari setelah menetas, dan waktu yang paling efektif melalui pemberian pakan karena daya serapnya lebih tinggi dan dapat langsung digunakan untuk diferensiasi kelamin pada organ target yang dibandingkan dengan perendaman larva pada umur yang sama.

Walaupun hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata tetapi indikasi seks reversal pada ikan nila merah melalui perendaman larva umur 9 hari, yaitu peningkatan persentase kelamin jantan sebesar 16,48% dari kontrol (Gambar 1). Ditemukannya ikan hermaphrodit pada semua perlakuan kecuali pada kontrol diduga disebabkan oleh dosis inhibitor yang rendah dan waktu perlakuan yang kurang lama untuk mempengaruhi proses diferensiasi kelamin jantan pada saat otak dalam keadaan labil sehingga proses diferensiasi kelamin tidak berjalan sempurna. Munculnya ikan hermaphrodit pada umumnya disebabkan oleh penggunaan dosis hormon yang rendah (sub-optimum) (Pandian dan Sheela, 1995). Tidak ditemukannya ikan hermaphrodit pada kontrol berhubungan dengan tidak diberikannya aromatase inhibitor, sehingga perkembangan gonad berlangsung secara alamiah. Menurut Brodie (1991) keberhasilan pengarahannya kelamin melalui penghambatan aromatisasi dengan menggunakan aromatase inhibitor dipengaruhi oleh dosis yang digunakan, lama perlakuan, dan waktu perlakuan.

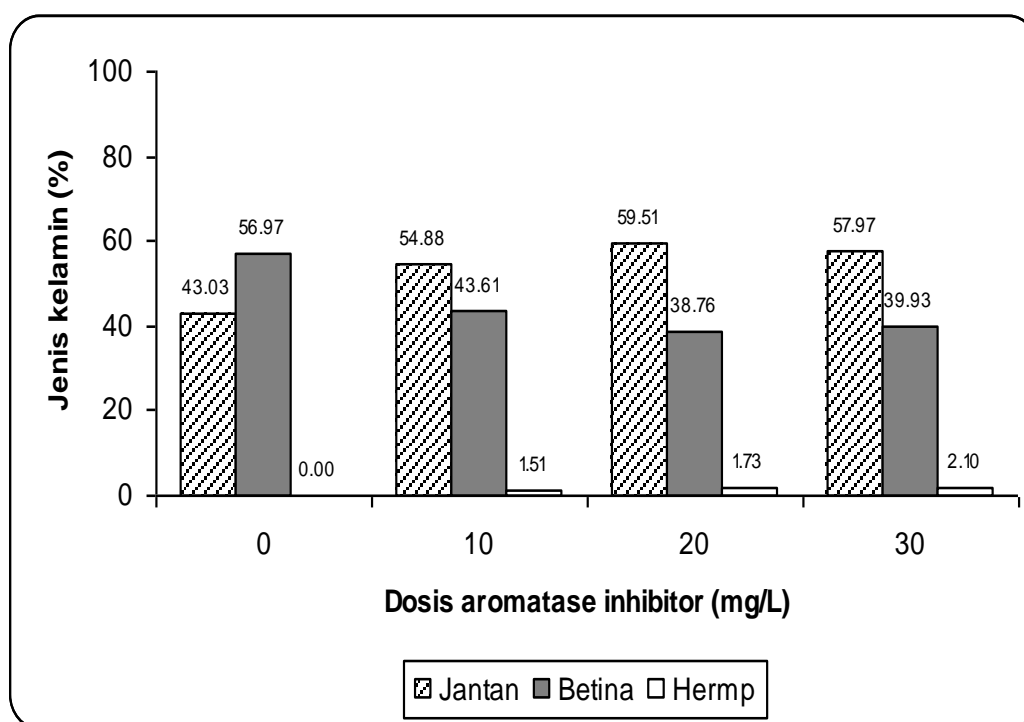
Pada saat ini belum diketahui dosis yang dapat menyebabkan kematian pada ikan. Namun, perlu diperhatikan hormon steroid, misalnya 17 α -metilt testosteron terdapat kecenderungan pemberian dosis yang terlalu rendah menyebabkan proses pengarahannya jenis kelamin kurang sempurna dan sebaliknya dapat menyebabkan ikan menjadi steril, abnormalitas, dan bahkan dapat menyebabkan kematian ikan (Zairin, 2002). Untuk perendaman yang efektif, perlu diperhatikan hubungan konsentrasi dan lama perendaman. Umumnya perendaman dengan dosis yang tinggi membutuhkan waktu perendaman yang singkat dan sebaliknya (Hunter dan Donaldson, 1983).

Selain karena dosis aromatase inhibitor dan waktu perlakuan yang kurang tepat,

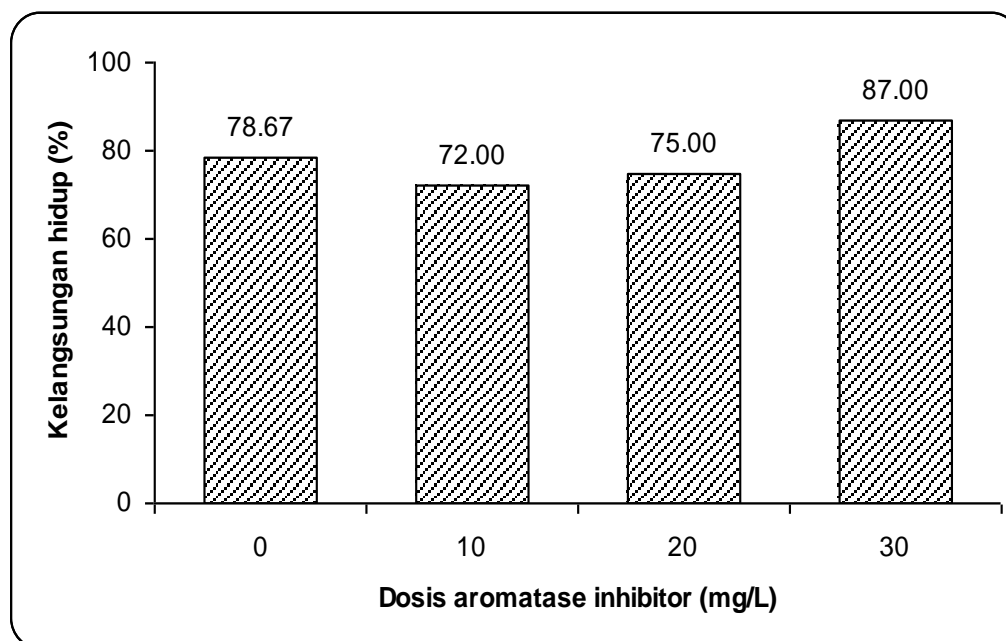
faktor lingkungan sangat berpengaruh terutama faktor suhu air pemeliharaan. Dari studi terbaru telah diketahui bahwa suhu merupakan faktor lingkungan yang berperan cukup besar terhadap jenis kelamin pada ikan (Strussman dan Patino, 1995), namun responnya bervariasi tergantung pada jenis ikan. Pengaruh suhu terhadap jenis kelamin ikan *Poecilipsis lucida* berbeda untuk tiap strain. Pada ikan *Carassius auratus* diketahui bahwa pemeliharaan pada temperatur yang rendah akan menghasilkan persentase betina antara 80-100%, sedangkan pada suhu normal (25-27°C) akan dihasilkan jenis kelamin jantan lebih tinggi, berkisar antara 60-70% (Oshiro *et al.*, 1998). Pada ikan Channel catfish (*Ictalurus punctatus*), pemeliharaan yang dilakukan pada suhu 20 - 27°C tidak berpengaruh terhadap jenis kelamin, sedangkan pada pemeliharaan pada

temperatur 34°C dihasilkan jenis kelamin jantan dan betina 1: 1,68 (Patino *et al.*, 1996).

Pemberian aromatase inhibitor melalui perendaman larva selama 10 hari tidak berpengaruh terhadap tingkat kelangsungan larva umur 9 hari setelah menetas pada taraf kepercayaan 95% (Gambar 2). Demikian juga pada akhir penelitian, pemberian aromatase inhibitor tidak berpengaruh terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan nila merah pada taraf kepercayaan 95%. Tingkat kelangsungan hidup ikan nila merah selama penelitian berkisar antara 72-87%. Tingkat kelangsungan hidup yang lebih tinggi menggambarkan kondisi pemeliharaan dan kondisi fisiologi yang baik, serta kualitas air yang mendukung pertumbuhan ikan.



Gambar 1. Persentase rata-rata jenis kelamin ikan nila merah (*Oreochromis sp.*).



Gambar 2. Tingkat kelangsungan hidup ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) pada akhir penelitian.

KESIMPULAN

Perendaman larva ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) umur 9 hari selama 10 jam pada aromatase inhibitor (Imidazole) tidak berpengaruh terhadap persentase kelamin jantan, namun berpeluang menghasilkan ikan hermaphrodit. Perendaman tersebut tidak berpengaruh terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan sampai hari ke-90 masa pemeliharaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Brodie, B. 1991. Androgen and its inhibitor: An Overview. *J. Steroid Biochemistry Molecular Biol.*, 40:255-261.
- Callard, G., B. Schlinger and M. Pasmanik. 1990. Nonmammalian vertebrate models in studies of brain-steroid interaction. *Journal of Experimental Zoology Supplement*, 4: 6-16.
- Hunter, G.A., and E. M. Donaldson. 1983. Hormonal sex control and application to fish culture. P: 223-291. In: W.S. Hoar, D.J. Randall, and E. M. Donaldson (Eds). *Fish Physiology*, Vol. IX B. Academic Press. New York.
- Higa, G. M. and M. D. Alkouri. 1998. Anastrozole: A selective aromatase inhibitor for treatment of breast cancer. *J. Health-Syst Pharm.* 55: 445-452.
- Kwon, J. Y., V. Haghnepah, L. M. Hurtado, B. McAdrew, and D. Penman. 2000. Masculinization of genetic female Nile tilapia (*Oreochromis* sp.) by dietary administration of an aromatase inhibitor during sexual differentiation. *Journal of Experimental Zoology*, 287: 46-53.
- Misnawati, H. 1997. Pengaruh Pemberian Hormon 17α -Metiltestosteron Kepada Larva Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Terhadap Nisbah Kelaminnya. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB.
- Nurlaela. 2002. Pengaruh Aromatase Inhibitor Pada Perendaman Embrio Terhadap Nisbah Kelamin Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp.). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB.

- Oshiro, T. 1987. Sex Ratio and Diploid
Gynogenetic Progeny Derived from Five
Different Females of old Fish. *Nippon
Suisan Gakkaishi*, 53 :1899.
- Pandian, T. J., and S. G. Shella. 1995.
Hormonal induction of sex reversal in
fish. *Aquaculture*, 138: 1-22.
- Pieferrer, F. S. Zanuy, M. Carillo, I. I. Solar,
R. H. Devlin and E. M. Donaldson.
1994. Brief treatment with an aromatase
inhibitor during sex differentiation cause
chromosomally female salmon to
develop as normal, function males.
Journal of Experimental Zoology, 270:
255-262.
- Strussman, C. A. and R. Patino. 1995.
Temperature manipulation of sex
differentiation in fish. In: F. W. Goetz
and P. Thomas, (Eds.), *Proceeding of
the Fifth International Symposium on
the Reproductive Physiology of Fish*.
Fish Symp., Austin, Texas.
- Sever, D. M., T. Halliday, V. Waight, J.
Brown, H. A. Davies, and C. Moriarty.
1999. Sperm storage in females of the
Smooth Newt (*Triturus V. Vulgaris* L.)
I: Ultrastructure of the spermathecal
during the breeding season. *Journal of
Experimental Zoology*, 283: 51-70.
- Suhanti, I. Y. 2003. Sensitivitas Periode
Waktu Pemberian Aromatase Inhibitor
melalui Pakan untuk Sex Reversal pada
Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp.).
Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu
Kelautan. IPB.
- Zairin, M. 2002. Sex Reversal Memproduksi
Benih Ikan Jantan atau Betina. Penebar
Swadaya. Jakarta.